فصلنامه (علمی – پژوهشی)
زیست شناسی تکوینی
سال یازدهم، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۷

# اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و میزان تولید اسانس در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در مراحل مختلف رشد

**مهین قائمی[۱]، زهرا زارع[۲*]، یارمحمد نصیری[۱]**

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان. گرگان. ایران
[۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه فرهنگیان. تهران. ایران

[*] Email: zahrazarebio@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۱۱

## چکیده

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از خانواده نعناع (Lamiaceae) به عنوان گیاه دارویی و سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجا که گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی به تنش خشکی درعملکرد و تولید مواد موثره دارند، شناسایی وضعیت رشد آنها در شرایط مختلف آبیاری و تنش خشکی می‌تواند راهنمای کشت گیاهان مقاوم به خشکی و کم آبی باشد. در این پژوهش اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفولوژیک و میزان تولید اسانس و به ویژه لینالول در مراحل مختلف رشد گیاه ریحان، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح خشکی (بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید) در شرایط گلدانی، در مراحل رویشی، پیش گلدهی، گلدهی و میوه دهی بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر صفات مورد ارزیابی داشته است. به طوری که با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ، در تمامی مراحل رشد کاهش و قطر ساقه در مراحل رشد به ویژه تنش شدید و طول ریشه در مرحله ی گلدهی افزایش داشته است. تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار تعداد گل‌ها شده است. تنش شدید در مراحل گل‌دهی و میوه دهی، کاهشی در میزان اسانس و به ویژه لینالول داشته است در حالی‌که تنش ملایم در هر دو مرحله افزایش در میزان این ترکیبات نشان داد. بیشترین میزان درصد اسانس (۰/۵۹ درصد) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله گلدهی و بیشترین میزان لینالول (۲۶/۷۷ میلی‌گرم در بوته) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی بود.

**کلیدواژه‌ها**: اسانس، تنش خشکی، ریحان، صفات مورفولوژیک، لینالول.

## مقدمه

ریحان گیاهی از خانواده‌ی نعنا (Lamiaceae) است که به‌عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به صورت سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاه ریحان از گیاهان دارویی ارزشمندی است که نه تنها در صنایع غذایی، داروسازی، دندانپزشکی، عطرسازی

و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربردهای فراوانی دارد[٤]، بلکه در طب سنتی و مدرن نیز موارد استفاده بسیاری دارد از این گیاه در معالجه‌ی نفخ شکم، برخی بیماری‌های قلبی، بزرگ شدن طحال و همچنین کمک به هضم غذا استفاده می شود [۲]. همچنین اسانس این گیاه خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی دارد [۱۹].

رشد و نمو گیاهان به عواملی چون نور، حرارت، اکسیژن، آب و ... در حد مطلوب و در زمان مناسب بستگی دارد، کمبود و یا افزایش بیش از حد مطلوب هر یک از عوامل موثر بر رشد، اختلالات ریختی، آناتومی، فیزیولوژیک و رشد و نمو را در گیاهان به همراه دارد [٦]. بنا براین انحراف از شرایط مطلوب در گیاهان، به عنوان تنش تعریف می‌شود و رشد و باروری گیاهان توسط فاکتورهای تنشی گوناگون زیستی و غیرزیستی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. تنش خشکی به‌منزله کمبود آب در گیاه بوده و این وضعیت هنگامی ایجاد می شود که میزان تعرق از میزان جذب آب بیشتر باشد. تنش خشکی معمولا باعث برخی پاسخ‌های مورفولوژیکی مانند: کاهش سطح برگ، کاهش رشد ساقه، افزایش رشد ریشه، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ رشد، تجمع ناگهانی آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات محلول و فعال سازی برخی آنزیم‌ها در گیاهان می‌شود [٦]. از آنجا که کشور ایران با متوسط نزولات آسمانی به عنوان منطقه خشک و نیمه خشک طبقه‌بندی می‌گردد، لذا وقوع تنش خشکی در دوره رشد محصولات کشاورزی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. در این زمینه، تعیین گیاهان دارویی متحمل به خشکی به لحاظ ارزش دارویی و اقتصادی حائز اهمیت می‌باشند. حتی مواد موثره گیاهان دارویی تحت تاثیر تنش‌های تنظیم شده و هدفمند، افزوده شده و یا مواد موثره ویژه پیدا کنند که در این صورت بازدهی اقتصادی آنها افزایش خواهد یافت [٤].

امروزه تحقیقات مختلف در زمینه‌ی تنش شوری روی گیاهان مختلف صورت گرفته است و پژوهش‌های اندکی در ارتباط با این تنش بر گیاه ریحان صورت گرفته است. گوهری و همکاران (۱۳۹٦)، برخی صفات رشدی و ویژگی های کمی اسانس گیاه ریحان را در شرایط تنش خشکی همراه با به کارگیری اسید هیومیک در کشت هیدروپونیک مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اعمال تنش شوری هر چند موجب کاهش اغلب صفات رشدی و نیز محتوای اسانس گیاه ریحان می‌شود اما کاربرد اسید هیومیک با بهبود ویژگی های رشدی، اثرات منفی تنش شوری را کاهش می دهد. ملک پور و همکاران (۲۰۱٦) نیز در پژوهشی مبنی بر تاثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه ریحان بنفش کاشته شده در مزارع شهرکرد تحت تنش خشکی، نشان دادند که ضمن اینکه تنش کم آبی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک ومورفولوژیک تاثیر دارد، با کاربرد کیتوزان تا حدی از اثرات منفی کم آبی کاسته می شود.Khalid (2006) با بررسی مقایسه ای اثر تنش بر دو گونه از جنس *Ocimum* نشان داد که درصد اسانس و ترکیبات اصلی آن و نیز محتوای کربوهیدرات‌ها و پرولین تحت شرایط تنش افزایش می یابد، در حالی‌که میزان پروتئین ها و برخی مواد معدنی کاهش نشان می دهد.

با توجه به موارد ذکر شده ، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و مقدار و نوع اسانس بر گیاه ریحان کاشته شده در گرگان در مراحل مختلف رشد می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:**

این تحقیق درسال ۱۳۹۳ – ۱۳۹۲ به‌صورت گلدانی و گلخانه‌ای در شرایط آب و هوایی گرگان با مشخصات جغرافیایی (عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ٤٥ دقیقه ی شرقی، طول جغرافیایی ٥٤ درجه و ۳۰ دقیقه‌ی شرقی و با ارتفاع ۱۰۰ متر از سطح دریا) صورت گرفت.

این آزمایش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل بدون تنش خشکی (تیمار شاهد)، تنش ملایم و تنش شدید خشکی در مراحل مختلف رشد گیاه ریحان در نظر گرفته شد[۱]

**مراحل اجرا:**

**تهیه بذر و کاشت:** مقدار ۵۰۰ گرم بذر ریحان از مرکز پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و در اسفند ماه ۹۲ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان در گلدان‌های با قطر دهانه ۲۷ و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر و در هر گلدان ۲۵ عدد بذر، کشت و آبیاری شد. پس از سبز شدن بذرها، در مرحله ی ۳ تا ۵ برگی تنک کردن صورت گرفت و در هر گلدان ۵ بوته گیاه حفظ شدند. گلدان‌ها با مخلوطی از خاک زراعی، ماسه، کود دامی و خاک برگ به نسبت (۱:۱:۲:۳) پر شدند. عملیات وجین دستی نوبت اول و دوم، تنک و سله شکنی به موقع صورت گرفت. جوانه زنی در دمای ۱۸ درجه و بقیه ی مراحل در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه گلخانه صورت گرفت [۱].

**اعمال تنش خشکی:** در ابتدا ظرفیت زراعی (FC) خاک گلدان‌ها تعیین و مقدار آب برای گلدان‌های شاهد محاسبه و در نظر گرفته شد. سپس ۲/۳ مقدار آن برای تنش ملایم و ۱/۳ آن برای تنش خشکی در نظر گرفته شد و با توجه به نوع تیمار گلدان‌ها با مقدار تعیین شده آبیاری شدند[۱۰].

**اندازه‌گیری فاکتورها:**

پس از اعمال تنش، در مراحل مختلف رشد (رویشی، پیش‌گلدهی، گلدهی و میوه‌دهی) بوته‌ها از خاک خارج و صفات مورفولوژیک آن شامل ارتفاع گیاه، طول ریشه، طول طوقه‌ی ساقه، طول برگ، تعداد گل‌ها و قطر گل‌ها، مورد بررسی قرار گرفت، همچنین مقدار تولید اسانس آن به ویژه مقدار (لینالول) با روش کروماتوگرافی مایع سنجیده شد.

پس از اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی مربوط به هر تیمار (شاهد، ملایم، شدید) در هر چهار مرحله از رشد گیاه(رویشی، پیش گلدهی، گلدهی و میوه دهی)، محاسبات آماری انجام شد و مقایسه بین تیمارها صورت گرفت.

**اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک**

۵ بوته را از خاک خارج کرده و فاکتورهای مرفولوژیک چون ارتفاع گیاه، طول برگ و طول ریشه با استفاده از خط‌کش مدرج و اندازه طوقه ساقه با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد [۱]. همچنین در مرحله گلدهی، تعداد گل شمارش شد.

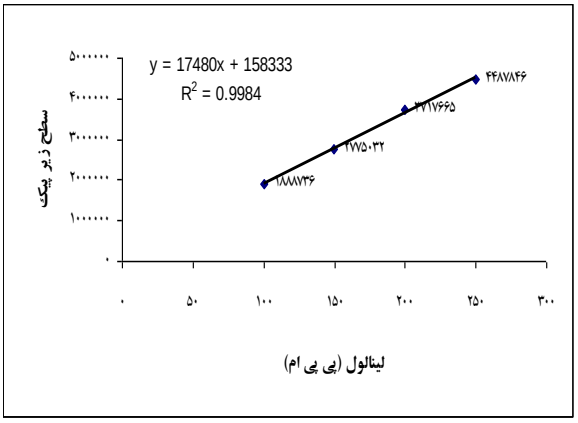
**استخراج و اندازه‌گیری اسانس**

اسانس‌گیری همزمان با مرحله گلدهی گیاه با استفاده از کلونجر به روش تقطیر با آب انجام شد. اندام‌های هوایی گیاه ریحان مربوط به هر تیمار، پس از خشک شدن آسیاب شده و سپس ۳۰ گرم از آن پس از خرد کردن با خردکن دستی به همراه ٦۰۰ میلی‌لیتر آب داخل کلونجر قرار داده و به مدت سه

ساعت اسانس‌گیری صورت گرفت. پس از خواندن حرارت، با باز کردن شیر پایین دستگاه ابتدا آب و سپس اسانس خارج شد. حجم اسانس بر حسب میلی‌لیتر در صد گرم نمونه گیاهی محاسبه و به‌صورت درصد بیان گردید. اسانس‌های حاصله از هر سه تکرار در هر تیمار در میکروتیوب‌های مجزا جمع آوری شد. سپس بعد از رطوبت‌گیری با سولفات سدیم، اسانس‌ها تا زمان اندازه‌گیری میزان لینالول (که در ادامه آمده است) در یخچال در دمای ٤ تا ٥ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند [٧].

**اندازه‌گیری لینالول با استفاده از دستگاهHPLC**

اندازه گیری لینالول با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا مدل Kannuar-2000 ساخت کشور آلمان انجام شد این سیستم مجهز به پمپ لاکروم مدل-۷۱۰۰ و آشکارساز یووی لاکروم مدل ل-۷۱۰۰ (با طول موج ۲۸۰ نانومتر) بود. ستون مورد استفاده در این بررسی ستون فاز معکوس سی-۱۸ با ابعاد ٤/٦*۲۵۰ میلی‌متر و اندازه ذرات ٤ میکرومتر استفاده شد نمونه‌ها با سرعت جریان یک میلی‌متر در دقیقه در طول موج ۲۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. فاز متحرک، استونیتریل ۵۰ درصد و دمای ستون در حین آنالیز مطابق دمای اطاق بود. بدین‌صورت که ٦ میکرولیتر از اسانس حاصله از هر تیمار را با استونیتریل تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق نموده و در سه نوبت (تکرار) به دستگاه HPLC تزریق و سطح زیر منحنی مربوطه خوانده شد. سپس با توجه به معادله منحنی استاندارد، غلظت لینالول به‌صورت میلی‌گرم بر لیتر (پی‌پی‌ام) تعیین و در نهایت به‌صورت میلی‌گرم در یک سی سی (۱۰۰۰ میکرولیتر) بیان شد. عملکرد لینالول در بوته نیز با استفاده از حاصلضرب مقدار لینالول در واحد اسانس و عملکرد اسانس در بوته محاسبه و به‌صورت میلی‌گرم در بوته بیان گردید. به‌منظور تهیهٔ نمودار کالیبراسیون و معادله خط مربوطه از غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر لینالول استفاده گردید [١٦]. بدین منظور ابتدا یک محلول ذخیره‌ای از لینالول به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و سپس حجم‌های معینی از آن در بالن ژوژهٔ ۱۰ سی سی، توسط استونیتریل رقیق گشته تا هر یک از غلظت‌های استاندارد فوق حاصل شود. هر یک از استانداردهای تهیه شده، سه بار به‌دستگاه HPLC تزریق گردیده تا از کالیبره بودن دستگاه اطمینان حاصل شود. سپس با استفاده از مساحت سطح زیر منحنی هر یک از استانداردها نمودار کالیبراسیون مربوطه رسم و معادله خط حاصله بدست آمد (تصویر ۱). سپس توسط معادله خط کالیبراسیون، مقدار لینالول رقیق شده در ۱۰ سی سی محاسبه و نهایتاً مقدار لینالول در نمونه‌های حاوی اسانس محاسبه گردید.




**تصویر ۱- منحنی کالیبراسیون لینالول**

به‌منظور شناسایی پیک مربوط به لینالول در نمونه‌های اسانس، زمان بازداری آن در نمونه با زمان بازداری ترکیب استاندارد در هر تزریق مقایسه شد. برای اطمینان بیشتر به ٦ میکرولیتر از یکی از

نمونه‌های اسانس در یک بالن ژوژه ۱۰ سی سی ۱۰ میکرولیتر لینالول خالص اضافه و سپس توسط استونیتریل به حجم رسانده شد، و ۲۰ میکرولیتر از این نمونه به دستگاه HPLC تزریق گردید. کروماتوگرام افزایش سطح زیر پیک لینالول اسانس را دقیقاً به میزان ۱۰ میکرو لیتر لینالول خالص نشان داد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها**

آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم شکل‌ها با استفاده از Excel انجام شد.

**نتایج**

**نتایج کلی اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد برصفات مورفولوژیک، میزان اسانس و لینالول**

جداول ۱ و ۲ اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشدی مختلف بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و مقدار اسانس گیاه ریحان، را نشان می‌دهد، جدول ۱ نشان داد که تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی، مراحل رشدی و اثرات متقابل آنها بر ارتفاع بوته، طول ریشه، قطر یقه، قطر ساقه، تعداد برگ و طول برگ تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت.

همچنین بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، سطوح مختلف تنش خشکی، مراحل رشد و اثرات متقابل آنها بر تعداد گل، درصد اسانس و لینالول تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت.

**جدول۱ – تجزیه واریانس برخی از اجزای عملکرد تحت تاثیر تیمارهای مختلف سطوح خشکی و مراحل رشد**

| منابع تغییرات | درجه آزادی (DF) | ارتفاع بوته (سانتی‌متر) | طول ریشه (سانتی‌متر) | قطر ساقه (میلی‌متر) | قطر طوقه (سانتی‌متر) | تعداد برگ (عدد) | طول برگ (سانتی متر) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| خشکی | ۲ | ۲۴۳/۱۲۳* | ۱۳۲/۱۱* | ۱۴۴/۵۹۴* | ۱۱/۳۴۴* | ۳۵۲/۱۱* | ۲۸/۲۲* |
| مراحل رشد | ۳ | ۷۸/۳۳۵* | ۱۵۵/۲۶* | ۱۵/۸۷۴* | ۶/۷۶۵* | ۳۲/۱۶* | ۱۵/۱۷* |
| خشکی* مراحل رشد | ۶ | ۱۳۲/۰۳۴* | ۵۸/۸۷* | ۷۷/۸۷۱* | ۸/۱۸۲* | ۸۷۵/۴۲* | ۱۹/۹۹* |
| خطا | ۱۲ | ۳۲/۹۸ | ۴۳/۹۸ | ۴۹/۷۷ | ۱۲/۹۸ | ۱۱/۸۷ | ۲۴/۸۷ |
| درصد ضریب تغییرات (CV) | | ۷/۹۸ | ۹/۴۳ | ۶/۳۲ | ۴/۵۴ | ۵/۹۹ | ۱۰/۱۲ |

* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪

**جدول ۲– تجزیه واریانس تعداد گل و درصد اسانس تحت تاثیر تیمارهای مختلف تنش خشکی و مراحل رشد**

| منابع تغییرات | درجه آزادی (DF) | تعداد گل (عدد) | درصد اسانس | لینالول (میلی‌گرم در بوته) |
|---|---|---|---|---|
| خشکی | ۲ | ۷۵/۱۷۱* | ۰/۲۳۴* | ۲۶/۲۹۲* |
| مراحل رشد | ۳ | ۲۰/۱۲۳* | ۰/۰۸۶* | ۱۶/۳۴۵* |
| خشکی * مراحل رشد | ۶ | ۳۴/۵۶* | ۰/۱۱۱* | ۱۹/۴۳۵* |
| خطا | ۱۲ | ۱۹/۷۶۸ | ۱۳/۲۳۴ | ۱۱۴/۱۱۰ |
| درصد ضریب تغییرات (CV) | | ۱۰/۵۶۵ | ۵/۱۲۶ | ۱/۳۲۱ |

**مطالعه اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر ارتفاع بوته**

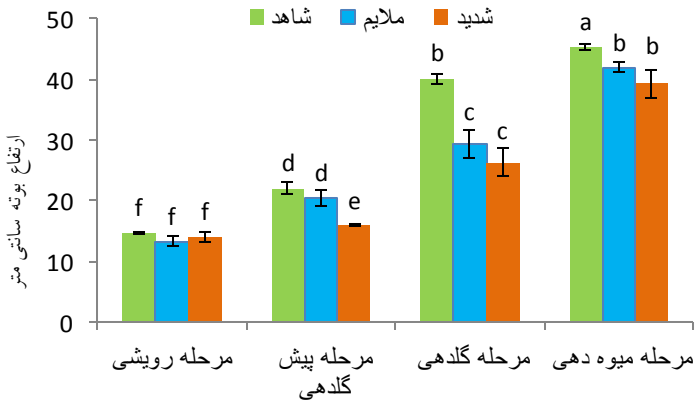
طبق نمودار ۱ بیشترین میزان ارتفاع بوته (۴۵/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به اثرات متقابل تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۱۳/۲۶ سانتی‌متر) هم مربوط به اثرات متقابل تنش ملایم در مرحله رویشی بود.

**مطالعه اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول ریشه**

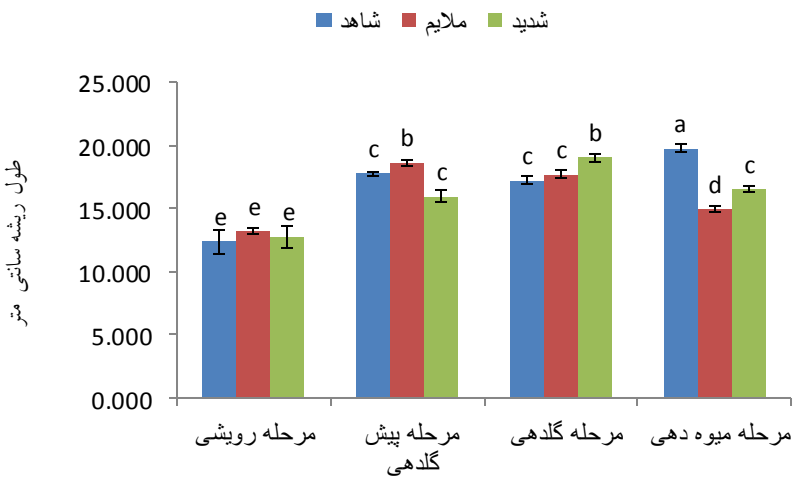
نمودار۲ نشان داد، بیشترین میزان طول ریشه (۱۹/۷۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۱۲/۳۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله رویشی بود.

**مطالعه اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر طوقه و ساقه**

بیشترین میزان قطر طوقه (۳/۶ سانتی‌متر) در تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی مشاهده شد و کمترین میزان آن (۰/۷ سانتی‌متر) مربوط به تیمار تنش شدید خشکی در مرحله رویشی بود (نمودار ۳).




**نمودار ۱- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر ارتفاع بوته**



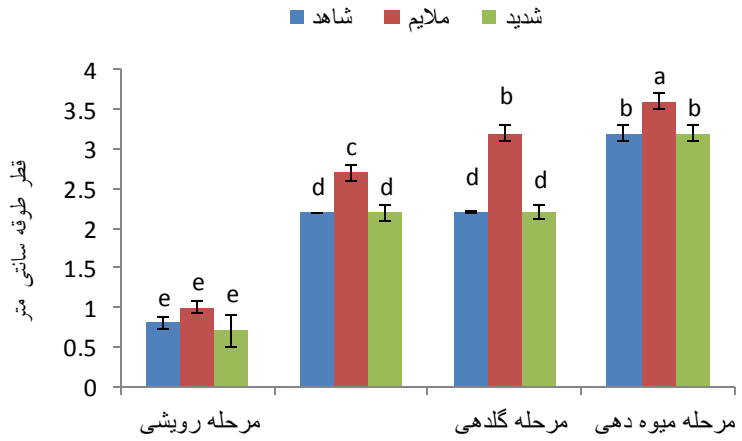

**نمودار ۲- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول ریشه**

همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان قطر ساقه (۱۵/۳۳ میلی‌متر) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۹/۰۱ میلی‌متر) مربوط به تنش خشکی شدید در مرحله رویشی بود (نمودار ٤).

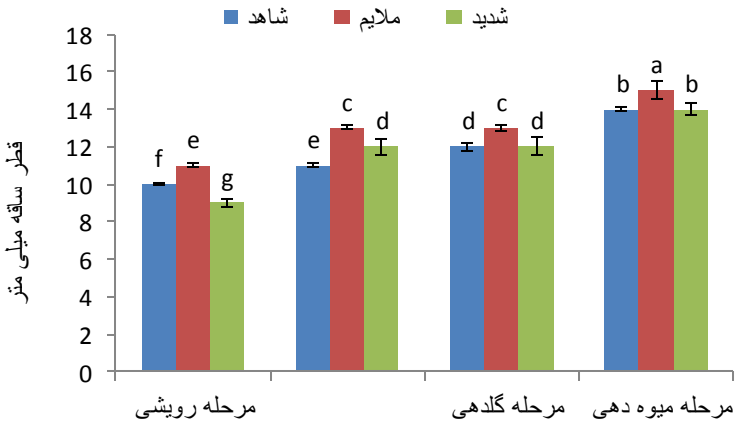
**مطالعه اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر تعداد و طول برگ**

بیشترین میزان تعداد برگ (۵۵/٦۳ عدد) مربوط به تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی بود. و کمترین میزان آن (۱۵/۵۳ عدد) مربوط به تیمار تنش خشکی ملایم در مرحله رویشی بود (نمودار ۵).

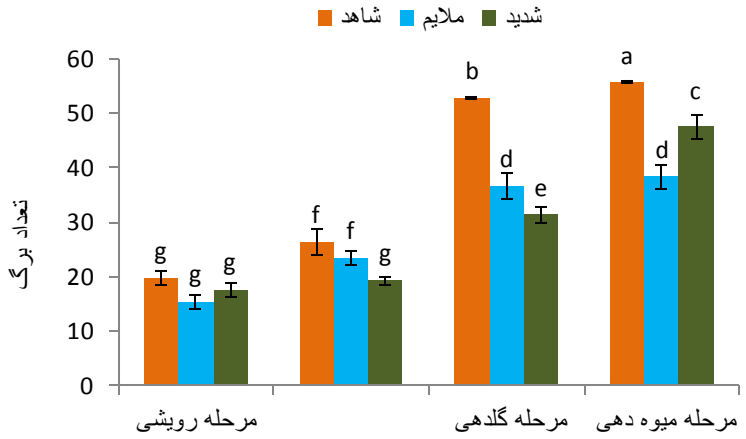
همچنین بیشترین میزان طول برگ (٤/۵۰ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله گلدهی‌دهی و کمترین میزان آن (۳/۱٦ سانتی‌متر) مربوط به تیمار تنش خشکی ملایم در مرحله پیش گلدهی بود (نمودار ٦).



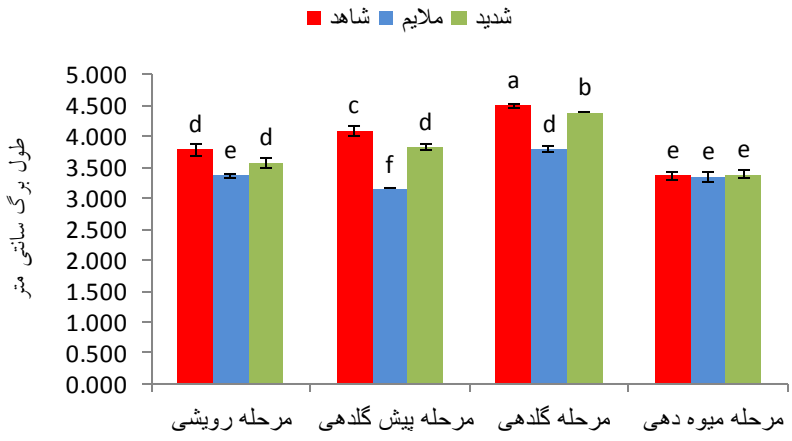

**نمودار۳- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر طوقه**




**نمودار٤- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر ساقه**




**نمودار ۵- مقایسه میانگین های مربوط اثرات متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر تعداد برگ**




**نمودار ٦- مقایسه میانگین های مربوط اثرات متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول برگ**

**مطالعه اثر سطوح مختلف خشکی و مراحل رشدی بر تعداد گل**

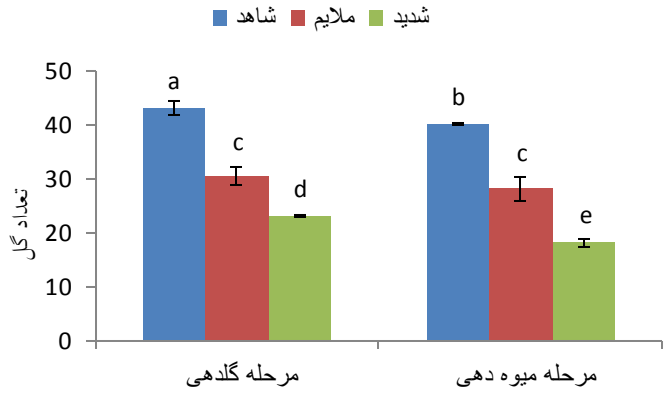
بیشترین میزان تعداد گل در بوته (٤٣/٢ عدد) مربوط به تیمار شاهد مرحله گلدهی و کمترین میزان آن (١٨/٣٢ عدد) هم مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله میوه‌دهی بود(نمودار٧).

**مطالعه اثر سطوح مختلف خشکی و مراحل رشدی بر درصد اسانس**

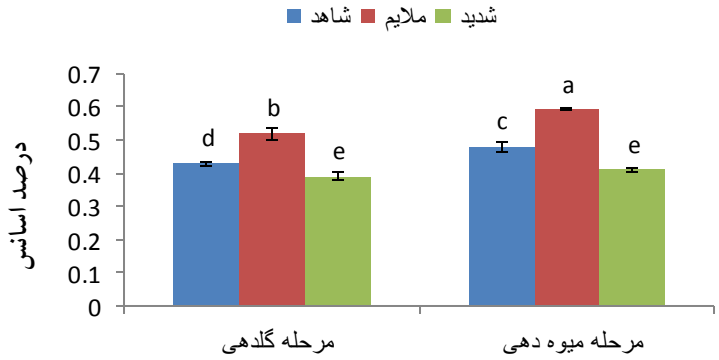
بیشترین میزان درصد اسانس (٠/٥٩ درصد) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه دهی و کمترین میزان آن (٠/٣٩ درصد) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله گلدهی مشاهده شد (نمودار ٨).

**مطالعه اثر سطوح مختلف خشکی و مراحل رشدی بر مقدار لینالول**

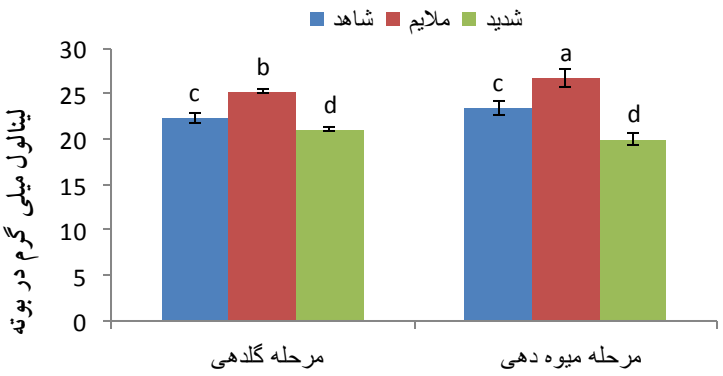
بیشترین میزان لینالول (٢٦/٧٧ میلی‌گرم در بوته) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (٢٠/١١ میلی‌گرم در بوته) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله گلدهی بود




نمودار۷– مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر تعداد گل




**نمودار۸– مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر درصد اسانس**




**نمودار۹– مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر لینالول**

**بحث:**

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و با استفاده از پژوهش‌های مشابه در خصوص اثرات تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک و پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان، به‌بحث و بررسی نتایج می‌پردازیم:

نتایج این پژوهش نشان داد که در اکثر دوره‌های رشد با افزایش میزان تنش خشکی ارتفاع گیاه کاهش می‌یابد. همچنین طول ریشه در مرحله‌ی گلدهی و

میوه‌دهی افزایش می‌یابد. قطر طوقه و ساقه در تمامی مراحل رشد در تنش ملایم بیشترین مقدار را نشان داد. تعداد و طول برگ‌ها نیز در شرایط تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافته است. اثر تنش در مراحل زایشی، سبب کاهش معنی دار تعداد گل‌ها نسبت به شاهد بوده است. تنش شدید در مراحل گل دهی و میوه دهی، اندکی کاهش در میزان تولید اسانس و به ویژه لینالول داشته است اما تنش ملایم در هر دو مرحله افزایش نسبت به شاهد نشان داد. تنش خشکی، یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان را تغییر دهد و رشد و نمو گیاهان را محدود کند، خشکی عامل بسیار مهم محدود کننده مرحله اولیه رشد و استقرار گیاهان است [۳]. تنش خشکی باعث برخی پاسخ‌های مورفولوژیکی مانند: کاهش سطح برگ، رشد ساقه، افزایش رشد ریشه، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ رشد، تجمع ناگهانی آنتی اکسیدان‌ها و ترکیبات محلول و فعال سازی برخی آنزیم‌ها در گیاهان می‌شود. همچنین اثرات تنش خشکی و گرما بر روی محصولات به مرحله رشد محصول نیز بستگی دارد [۱۵]، که با نتایج این تحقیق که نشان داد تنش شدید خشکی در مراحل رشد رویشی، پیش‌گلدهی، گلدهی و میوه‌دهی میزان ارتفاع بوته، طول برگ، تعداد برگ و تعداد گل را به طور معنی‌داری کاهش می دهد، مطابقت دارد. زیرا کیفیت و کمیت رشد گیاهان به تقسیم سلولی، بزرگ شدن سلول و تمایز سلولی وابسته است و این عوامل از تنش خشکی تاثیر می‌پذیرند [۱۸و ۲۲]. همچنین طبق گزارشات Jaleel و همکاران (۲۰۰۷) و Farooq و همکاران (2009) تنش خشکی رشد گیاه را با اثرگذاری بر فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مانند: فتوسنتز، تنفس، جذب یون، کربوهیدرات‌ها، متابولیسم مواد غذایی و پارامترهای رشد کاهش می‌دهد. نتایج این پژوهش با پژوهش‌های سایر پژوهشگران در کاهش ارتفاع ساقه گیاهان مختلف تحت تنش خشکی مطابقت دارد به‌عنوان مثال Specht و همکاران (۲۰۰۱) و Zhang و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کرده‌اند که درگیاه سویا، ارتفاع ساقه تحت تأثیر شرایط کم آبی کاهش پیدا می‌کند. Wu و همکاران (۲۰۰۸) ، گزارش کرده اند که در استرس آبی، ارتفاع نهال مرکبات تا ۲۵٪ کاهش می‌یابد و Petropoulos و همکاران (۲۰۰۸) کاهش معنی‌دار ارتفاع ساقه در گیاه جعفری را گزارش کرده اند. که همه ی موارد با نتایج این پژوهش در کاهش ارتفاع ساقه تحت تنش خشکی هم سو است. ارتفاع گیاه یکی از مهمترین پارامترهایی است که به شدت تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. با کاهش پتانسیل اسمزی، انرژی آزاد آب کاهش یافته و گیاه برای به دست آوردن مقدار مشخصی آب باید انرژی حیاتی بیشتری صرف کند، لذا بخشی از انرژی خود گیاه که برای رشد و نمو به آن نیاز دارد صرف بدست آوردن آب شده و بدین ترتیب رشد عمومی آن کاهش می‌یابد.

همچنین Sangwan و همکاران در سال ۱۹۹٤ گزارش کردند که سطوح متوسط استرس خشکی، در گیاه علف لیمو ارتفاع گیاه، سطح برگ ها و وزن برگ‌ها را کم می‌کند که با نتایج این تحقیق هم مطابقت دارد.

بر اثر تنش خشکی تعداد و اندازه برگ‌ها، ارتفاع بوته، فاصله میانگره، وزن خشک بوته و سایر پارامترهای رشد تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابند. احتمالاً کاهش سطح برگ به دلیل کاهش محتوای نسبی آب و متعاقباً کوچک شدن اندازه

سلول‌ها، کاهش تقسیم سلول‌های مریستمی و در نتیجه کند شدن رشد برگ، توقف تولید برگ، تسریع پیری و متعاقب آن ریزش برگ‌ها می‌باشد [۲۰].

Khurana and Singh (۲۰۰۰) نیز نشان دادند که کاهش سطح وتعداد برگ در اثر افزایش تنش خشکی سبب کاهش اتلاف آب و تعرق و متعاقب آن افزایش مقاومت گیاهان در برابر خشکی می‌شود.

محصولات دارویی بر خلاف همه محصولات کشاورزی که در اوضاع تنشی از نظر مقدار تولید صدمه می‌بینند، ممکن است در این اوضاع تولید مواد شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی بالاتری پیدا کنند [۳]. تولید متابولیت‌های ثانویه برای سازگاری گیاه نسبت به‌عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و به‌منزله به کار افتادن یک نوع جریان دفاعی در جهت استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی به حساب می‌آید [۳].

نتایج این تحقیق نشان داد در شرایط تنش خشکی ملایم میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه از جمله میزان لینالول افزایش می‌یابد، چون گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی جهت مقابله با استرس برخی از متابولیت‌های ثانویه سنتز می‌کنند و میزان آنها در گیاهان به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. اما در گیاهان دارویی که برای تولید مواد موثر، به رشد کامل رویشی و زایشی نیاز دارند، تنش خشکی موجب کاهش مواد موثر و کیفیت آنها می‌گردد [۱۰] که با نتایج این تحقیق که نشان داد در شرایط تنش خشکی شدید میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه از جمله میزان لینالول به طور معنی‌داری کاهش کاهش پیدا کرد مطابقت دارد.

## منابع:


[۱] اصلانی، ز؛ حسنی، ع؛ صدقیانی، م؛ سفیدکن، ف و برین، م. ۱۳۹۰. تأثیر دو گونه قارچ آربوسکولار مایکوریزا (*Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*) بر رشد، مقادیر کلروفیل و جذب فسفر در گیاه ریحان *Ocimum basilicum* L. تحت شرایط تنش خشکی. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطرایران. ۲۷(۳): ۴۷۱-۴۸۶.

[۲] افکاری، ا. ۱۳۹۶. تأثیرتنش خشکی ومقادیرکود نیتروژنه بر میزان وعملکرد اسانس و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی *Ocimum basilicum* L. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۳ (۶): ۱۰۴۷-۱۰۵۹.

[۳] امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد دوم، تهران: انتشارات طراحان نشر. ۴۲۴ صفحه.

[۴] امیدبیگی، ر؛ صدرایی منجیلی، ک و سفیدکن، فاطمه. ۱۳۸۴. اثر تاریخ کاشت بر عملکرد های کمی و کیفی گیاه *Foenicum vulgare* cv. Soroksari. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۱(۴): ۴۷۹-۴۶۵.

[۵] پناهی نیا،م؛ ثانی خانی، م و خیری، ع. ۱۳۹۵. خصوصیات مورفولوژیک و عملکرد گیاه ریحان با کاربرد نیتروژن و آهن. دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۲۶(۴): ۱۵۷-۱۶۶.

[۶] چهرگانی راد، ع، خورزمان، ن؛ لاری یزدی، ح و شیرخانی، ز. ۱۳۹۵. تغییر در صفات رویشی و شاخص‌های فیزیولوژیک گیاهان لوبیا تحت تنش روی در محیط‌کشت هیدروپونیک. زیست‌شناسی تکوینی. ۸(۲): ۳۱-۳۹.

[۷] رسولی، د و فاخری، ب. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر عملکرد کمی و کیفی، خصوصیات فیزیولوژیک و ترکیب‌های اسانس دو گونه *Ocimum basilicum* L. و *Ocimum americanum* L. فصلنامهٔ تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۲(۵): ۹۰۰-۹۱۴.

[۸] ضیایی، م؛ شریفی، م؛ نقدی بادی، ح، تحصیلی، ژ و قربانی نهوجی، م. ۱۳۹۳. مروری بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با تأکید بر عمده‌ترین ترکیبات ثانویه و ویژگی‌های زراعی و دارویی آن. فصلنامه گیاهان دارویی. ٤(٥٢):٢٦-٤١.

[۹] گوهری، غ؛ رسولی، ف و زاهدی، س. ۱۳۹٦. ارزیابی برخی صفات رشدی و ویژگی‌های کمی اسانس ریحان *Ocimum basilicum* L. در شرایط تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک. دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۲۷(۲): ۱۵۹-۱٦۷.

[۱۰] لباسچی، م و شریفی، ا. ۱۳۸۳. شاخص‌های رشد برخی گونه های گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی. فصلنامهٔ تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۰(۳): ۲٤۹-۲٦۱.

[۱۱] ملک پور، فاطمه؛ سلیمی، ا و قاسمی پیر بلوطی، ع. ۱۳۹۵. تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش *Ocimum basilicum* L. تحت تنش کم آبی. اکوفیزیولوژی گیاهی. ۸(۲۷): ٥٦-۷۱.

[۱۲] همایی، م. ۱۳۸۱. واکنش گیاهان به شوری. تهران: انتشارات کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران. ۹۷ صفحه.

[13] Afkari, A. (2014). Effect of water stress on potassium accumulation and seed yield of different sunflower (*Helianthus annuus* L.) varieties. International Journal of Current Life Sciences. 4(3): 808-811.

[14] Farooq, M., Wahid, A. Kobayashi, N., Fujita, D and Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29: 185 –212.

[15] Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., AL- Juburi, H.J., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2009). Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. International Journal Agriculture and Biology. 11; 100 – 105.

[16] Khalid, Kh.A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum sp*.). International Agrophysics. 20: 289-296.

[17] Khurana, E. and singh, J.S. (2000). Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. Annals of Botany 86: 1185 -1192.

[18] Kusaka, M., Ohta, M. and Fujimura, T. (2005). Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet. Physiol. Plant. 125: 474–489

[19] Mohammadkhani, N. and Heidari, R. (2007). Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow Maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Science. 10(22): 4022-4028.

[20] Osuagwu, G.G.E.,Teixeira da Silva, J.A. and Edeoga, H.O. (2011). Effect of Water Stress (Drought) on the Antimicrobial Activity of the Leaves of *Ocimum gratissimum* L. and *Gongronema latifolium* Benth. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology. 5 (1): 38-42.

[21] Petropoulos, S.A., Dimitra Daferera, Polissiou, M.G. and Passam, H.C. (2008). The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Scientia Horticulturae. 115: 393- 397.

[22] Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007). Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 60: 229 –235.

[23] Singh-Sangwan, N., Farooqi, A.H.A. and Sangwan, R. S. (1994). Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. New Phytologist. 128: 173-179.

[24] Specht, J.E., Chase, K., Macrander, M., Graef, G.L., Chung, J., Markwell, J.P., Germann, M., Orf, J.H. and Lark, K.G. (2001). Soybean response to water. A QTL analysis of drought tolerance. Crop Science. 41: 493 – 509.

[25] Wu, Q.S., Xia, R.X. and Zou, Y.N. (2008). Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. European Journal of Soil Biology. 44: 122 – 128.

[26] Zhang, M., Duan, L., Zhai, Z., Li, J., Tian, X., Wang, B., He, Z. and Li, Z. (2004). Effects of plant growth regulators on water deficit-induced yield loss in soybean. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia.

**Journal of Developmental Biology**
**Vol. 11, No. 1, Winter 2019**

# Effect of Drought Stress on Some Morphological Characteristics and Essential Oil Production Levels of *Ocimum basilicum* in Different Stages of Growth

**Ghaemi M. [1], Zare Z. [2*], Nasiri Y. M.[1]**

[1] Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.
[2] Department of Biology, Farhangian university, Tehran, Iran.

[*] Email: zahrazarebio@gmail.com

Received: 6 September 2018 Accepted: 1 January 2019

## Abstract

*Ocimum basilicum* L.from Lamiaceae is used as a herb, spice and fresh vegetable. Since medicinal plants have different reactions to drought stress in the production of effective compounds, Diagnosis of medicinal plants growth under different irrigation conditions and drought stress can be a guide for growing plants in dry and low water conditions. Therefore, in order to evaluate the effect of drought stress on morphological characteristics and essential oil content, especially linalool, in different stages of plant growth of Basil plant, a completely randomized factorial design was carried out in 3 replications. The experimental treatments included three levels of dryness (no stress, mild stress and severe stress) in potted conditions, in vegetative, pre-flowering, flowering and fruit-growing stages. The results showed that drought stress had a significant effect on evaluated characteristics. So, with decreasing of soil moisture content, plant height, number and leaf area, decreased in all stages of growth and Stem diameter increased at all stages, especially in severe stress and root length, increased during flowering stage. In reproductive stages, drought stress caused a significant reduction in the number of flowers than the control. Extreme stress in flowering and fruiting stages has had decrease in the amount of essential oil production, especially linalool. However, mild stress showed increase in the production of these compounds in both steps. The highest percentage of essential oil was related to mild drought stress at flowering stage and the highest amount of linalool was due to mild drought stress in the fruiting stage.

**Keywords:** Drought Stress, Essential oil, Morphological Characteristics, Linalool. *Ocimum basilicum* L.